

Induksi Protocorm pada Eksplan Bawang Putih pada Media MS Minim Hara Makro dan Mikro yang Ditambahkan Air Kelapa

Induction of protocorm in garlic explants on the medium MS minimal macro and micro nutrients added of coconut water

Indriati Husain

*Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Negeri Gorontalo
Jl. Jend. Sudirman No. 6 Kota Gorontalo 96128*

✉ : indriati_husain@yahoo.com

ABSTRACT

This research aims to determine the occurrence on induction of protocorm in garlic on the media MS minimal macro and micro nutrient added coconut water. The materials used are garlic, coconut water and nutrient minimal macro and micro. The result was the establishment of direct induction of green protocorm from garlic explants. Conclusion of this research is the addition of 15% coconut water in medium MS minimal macro and micro nutrient can induce formation of protocorm directly from garlic explants.

Keywords: Induction, protocorm, garlic, coconut water, micro-macro-nutrient

PENDAHULUAN

Bawang putih adalah nama tanaman dari genus *Allium* sekaligus nama dari umbi yang dihasilkan. Umbi dari tanaman bawang putih merupakan bahan utama untuk bumbu dasar masakan Indonesia. Bawang putih penuh dengan senyawa-senyawa sulfur, termasuk zat kimia yang disebut alliin yang membuat bawang putih mentah terasa getir atau angur. Bawang putih mempunyai khasiat sebagai antibiotik alami di dalam tubuh manusia (Wikipedia 2011).

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyakan alternatif pada tanaman. Melalui teknik ini, sel atau jaringan tanaman yang diisolasi dari bagian tanaman, seperti protoplasma, sel atau sekelompok sel, yang selanjutnya disebut eksplan, distimulasi untuk membentuk tanaman secara utuh menggunakan media dan lingkungan tumbuh yang sesuai (Gunawan 1988). Teknik kultur jaringan ini berkembang dengan landasan teori sel yang menerangkan bahwa setiap sel tanaman merupakan unit bebas yang mampu membentuk organisme baru yang sempurna atau sel-sel tanaman yang mempunyai sifat totipotensi (Sastrowijoyo 1976). Teknik kultur jaringan merupakan perbanyakan tanaman secara vegetatif, alternatif yang tepat untuk mengatasi masalah kekurangan bibit bawang putih, karena dapat menghasilkan bibit dalam jumlah besar dan seragam sesuai karakter bawang putih yang diinginkan. Perbanyakan secara konvensional, jumlah bawang putih yang dihasilkan relatif sedikit.

Perbanyakan bawang putih secara *in vitro* yang telah dilakukan adalah dengan menggunakan media dasar MS (Murashige dan Skoog), dengan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) auksin (NAA), BAP, kinetin, 2-ip dengan konsentrasi tertentu. Namun di Laboratorium Kultur Jaringan ini tidak memiliki bahan-bahan kimia yang lengkap yang merupakan komponen penyusun media dasar MS tersebut. Untuk kekurangan tersebut perlu dicari solusi, bagaimana agar tanpa adanya komponen bahan media dasar MS yang lengkap tapi proses kultur jaringan bawang merah tetap berjalan dengan lancar, dengan menggunakan bahan-bahan kimia yang tersedia dan penambahan air kelapa yang bisa didapat dengan gratis di pasar atau dari kebun sendiri. Air kelapa adalah salah satu diantara beberapa persenyawaan kompleks alamiah yang digunakan dalam kultur jaringan. Air kelapa merangsang pembelahan epidermis dan mengarah pada pembentukan protocorm jaringan supaya beregenerasi lebih lanjut dan lebih cepat.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan selama satu bulan dari bulan Juli sampai Agustus 2011 di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Negeri Gorontalo. Alat yang diperlukan: Laminar Air Flow Cabinet (LAF), otoklaf, destilator, alat-alat tanam (*dissecting kit*) berupa pinset dental, pinset anatomi dan scalpel, alat-alat gelas berupa cawan petri, botol-botol kultur, erlenmeyer, tabung reaksi, beker gelas (gelas piala), tabung ukur, labu ukur, botol stok, timbangan digital 4 desimal, rak kultur, pH meter, *hot plate*. Bahan yang dibutuhkan: Stok makro (minim), stok mikro (minim, bayclean, alkohol, tisu, aquades steril, bawang putih. Prosedur kerja penelitian ini diuraikan sebagai berikut:

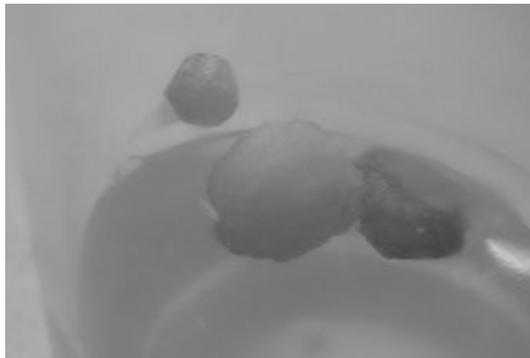
Sterilisasi alat dan media yang terdiri dari: (1) masukkan botol-botol kultur dan peralatan yang lain ke dalam otoklaf, (2) nyalakan otoklaf dan setting pada tekanan 18 psi dan suhu 121°C (sterilisasi alat = 30 menit-1 jam, bahan/media = 15-20 menit, dan (3) setelah otoklaf selesai bekerja, keluarkan semua alat dan simpan dalam oven.

Tahapan selanjutnya adalah pembuatan media meliputi: (1) masukkan 500 ml aquades ke dalam gelas piala ukuran 1500 ml atau wadah lain yang sesuai, (2) tambahkan 20 ml larutan stok A, (3) tambahkan 20 ml larutan stok B, (4) timbang 30 g gula pasir, tambahkan dalam larutan dan aduk hingga larut, (5) tambahkan 15% air kelapa, (6) tambahkan aquades sampai volume mencapai 1000 ml, (7) ukur pH media, tambahkan asam atau basa sampai mencapai pH 5,8-6,2., (8) tambahkan bubuk agar-agar 8 g, aduk hingga rata, (9) panaskan sambil diaduk sampai larutan menjadi jernih, (10) tuang media ke dalam botol-botol kultur sebanyak 20 ml setiap botol, (11) tutup botol-botol kultur, (12) sterilkan dengan otoklaf, tekanan 1 atm selama 15 menit.

Sterilisasi bawang putih dilakukan dengan jalan bawang putih setelah dikupas, dicuci dengan deterjen dan diguyur dengan air mengalir, kemudian disterilisasi dengan menggunakan bayclean 5% selama 10 menit, dan dibilas dengan air steril sebanyak tiga kali, disterilisasi lagi dengan bayclean 10% selama 5 menit, bilas dengan air steril sebanyak tiga kali. Inisiasi eksplan dan inkubasi dilakukan dengan jalan bawang putih yang telah disterilisasi ditempatkan dalam laminar air *flow cabinet*. Bawang putih dibelah dengan skalpel dan pinset. Ambil bagian tengah bawang putih yang berwarna pucat di mana terdapat jaringan meristem pada bagian tersebut. Bagian tersebut dipotong-potong dalam ukuran kecil, sehingga diperoleh beberapa potong eksplan dari satu siung bawang putih. Potongan-potongan eksplan tersebut dimasukkan dalam botol-botol kultur yang berisi media padat yang mengandung air kelapa, dan ditempatkan di rak kultur yang telah terpasang lampu neon 20 Watt untuk inkubasi. Variabel yang diamati adalah protocorm yang terinduksi/terbentuk dari eksplan bawang putih. Hasil yang diperoleh dianalisis secara kualitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

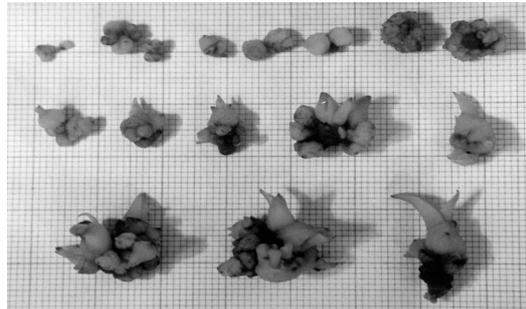
Protocorm berhasil terinduksi/terbentuk dari eksplan bawang putih, berwarna hijau pucat, berbentuk bulat seperti biji pada umumnya, tapi tanpa endosperm dan kotiledon (Gambar 1).



Gambar 1. Protocorm dari eksplan bawang putih hasil induksi dan memperbanyak diri

Eksplan bawang putih yang tidak terkontaminasi dan tidak terjadi penyoklatan (*browning*) mengalami pembengkakan dalam waktu 2 minggu. Minggu ke 3 mulai terbentuk bulatan-bulatan kecil yang makin membesar dengan ukuran diameter sekitar 0,5 cm sampai hampir 1 cm. Media MS dengan komposisi lengkap dapat dilihat pada Lampiran 1. Tapi dalam penelitian ini hanya menggunakan dua macam nutrisi makro/hara makro dan dua macam nutrisi mikro/hara mikro untuk komposisi media MS padat tersebut, karena tidak ada/tidak lengkapnya bahan kemikalis penyusun media MS yang ada di laboratorium kultur jaringan Fakultas Pertanian, UNG. Air kelapa dengan konsentrasi 15% ditambahkan dalam media MS yang minim hara makro dan mikro tersebut. Air kelapa diambil dari kelapa yang sudah tua, karena air kelapa tersebut secara umum selain rasanya lebih manis, juga karena kandungan senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya telah lengkap.

Hasil yang diperoleh ternyata media MS padat minim nutrisi yang ditambahkan 15% air kelapa tersebut dapat menginduksi terbentuknya protocorm dari eksplan bawang putih. Selain bisa terjadi induksi, ternyata juga dalam media tersebut protocorm masih bisa memperbanyak diri/terjadi pembelahan sel (dilihat dari jumlah protocormnya yang lebih dari satu) (Gambar 1). Menurut Suryowinoto (1996), yang dimaksud dengan protocorm adalah biji yang sedang berkecambah, misalnya biji pada anggrek yang sedang berkecambah. Pada protocorm biasanya tidak dapat ditunjuk dengan tegas bagian yang mana yang akan menjadi tunas atau menjadi akar. Pada kultur *in vitro* tanaman anggrek, dengan cara *liquid agitatik*, setelah tumbuh kalus, karena digojog dengan kecepatan 100-200 rpm, maka polaritasnya kelompok-kelompok sel meristematis hilang, tidak berkutub lagi, akibatnya terbentuk benda-benda bulat yang dinamakan *plb* atau *protocorm like-bodies*. Benda-benda semacam ini (*plb*), kalau ditanam dalam medium VW yang padat akan berkembang menjadi *plantula* (*plantlet*), atau bibit-bibit tanaman kecil.



Gambar 2. Pertumbuhan *protocorm like-bodies* menjadi plantlet (Husain 2002).

Protocorm yang telah berhasil diinduksi tersebut akan memperbanyak diri dalam waktu singkat. Massa protocorm yang berkelompok tersebut dapat dipisah-pisahkan dan ditumbuhkan pada media serupa yang baru (sub kultur). Media subkultur yang baru tersebut tujuannya bisa untuk memperbanyak lagi protocorm yang ada, atau media baru yang lain untuk proses pembentukan akar atau pucuk, proses pendewasaan protocorm menjadi tanaman baru yang lengkap, dan siap untuk ditransplanting (pindah tanam) (Gambar 2).

Air kelapa, mengandung *diphenyl urea* (dpu) yang mempunyai aktivitas seperti sitokinin (Tabel 1). Dengan demikian, bila sudah menggunakan air kelapa, tidak perlu ditambahkan kinetin (Sriyanti 2000). Sebaiknya air kelapa yang dipakai adalah berasal dari kelapa yang telah tua karena hormon-hormon yang terkandung di dalamnya telah terbentuk sempurna (Wattimena, komunikasi pribadi *dalam* Husain 2002). Dalam penelitian ini, tujuan penambahan air kelapa untuk mendapatkan zat pengatur tumbuh/hormon-hormon yang terkandung dalam air kelapa tersebut. Dengan demikian, berdasarkan piramida keseimbangan auksin dan sitokinin, bisa diduga bahwa dalam air kelapa tersebut terkandung hormon auksin dan sitokinin dalam konsentrasi yang seimbang, sehingga menghasilkan protocorm/kalus dari eksplan bawang putih tersebut.

Tabel 1. Komponen Bahan Kimia dalam Air Kelapa

Bahan Kimia	Komponen Bahan Kimia
Asam amino	Aspartat, glutamat, serin, asparagin, glisin, β -alamin, threonin, histidin, glutamin, arginin, lisin, valin, metionin, tirosin, prolin, homo-serin, fenilalanin, hidroksiprolin.
Kandungan nitrogen Asam-asam organik	Amonium, etanol-amin, dihidroksi-fenilalanin. Sikimik, kuinik, pirolidon, karboksilik, suksinik, malik, sitrik.
Gula Gula alkohol Vitamin	Sukrosa, glukosa, fruktosa, manitol. Sorbitol, mioinositol, skiloinositol. Asam nikotinat, asam pantotenat, biotin, riboflavin, asam folat, tiamin, piridoksin, asam askorbat.
Substansi pertumbuhan	Auksin, giberelin, zeatin, 1,3-diphenilurea, zeatin glukosida, zeatin ribosida, promotor pertumbuhan, sitokinin-sitokinin yang lain.
Lain-lain	RNA-polimerase, DNA-P, urasil, adenin, leukoantosianin, pilokosin, asam fosfatase, diastase, dehidrogenase, peroksidase, katalase.

Sumber : George dan Sherrington (1984) dalam Sriyanti (2000).

KESIMPULAN

Protocorm bisa diinduksi dari eksplan bawang putih dengan menggunakan media MS minim hara makro dan mikro yang ditambahkan 15% air kelapa.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2010. Bawang Putih. Yayasan Spiritia. Akses internet 10 November 2011.
- George, E.F. dan P.D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Exegeties Limited. England.
- Husain, I. 2002. Kandungan Senyawa Antibakteri dalam Anggrek Dendrobium Woo Leng yang Berasal dari Lapang dan Kultur In Vitro. Tesis. Pascasarjana. IPB.
- Parera, Dj.F. 1997. Pengaruh Tingkat Konsentrasi Air Kelapa terhadap Pertumbuhan dan Perbanyakan Tanaman Anggrek Dendrobium sp melalui Teknik Kultur Jaringan. *J. Ilmu Pengetahuan dan Teknologi* 2:57-64.
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1985. Plant Physiology. Wads Word. Publishing Co. Belmont. California.
- Sriyanti, D.P. 2000. Pembibitan Anggrek dalam Botol. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Suryowinoto, M. 1996. Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro. Peenerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Suryowinoto, M. 1974. Merawat Anggrek. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Yuwono, T. 2008. Bioteknologi Pertanian. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Wattimena, G.A., L.W. Gunawan, N.A. Mattjik, E. Syamsudin, N.M.A. Wiendi dan A. Ernawati. 1992. Bioteknologi Tanaman (Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman). Dept. Pendidikan dan Kebudayaan Direk. Jend. Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Wetter, L.R. dan F. Constabel. 1991. Metode Kultur Jaringan Tanaman. Penerbit ITB. Bandung.
- Wikipedia Bahasa Indonesia, Ensiklopedia Bebas, diakses 1 Agustus 2011.

Lampiran 1. Formulasi Dasar Garam-garam Mineral Murashige dan Skoog (media MS)

No	Nama Kemikalis	Rumus Kimia	Kadar/Liter media
A	Makronutrien :		
	Ammonium nitrat	NH_4NO_3	1,65 g
	Kalium nitrat	KNO_3	1,90 g
	Kalsium klorida dihidrat	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,44 g
	Magnesium sulfat 7 hidrat	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,37 g
	Kalium dihidrogen fosfat	KH_2PO_4	0,17 g
B	Sumber Besi :		
	Ferro sulfat 7 hidrat	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,8 mg
	Dinatrium EDTA	$\text{Na}_2 \cdot \text{EDTA}$	37,3 mg
C	Mikronutrien :		
	Asam borat	H_3BO_3	6,2 mg
	Mangan-sulfat 4 hidrat	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3 mg
	Seng sulfat 4 hidrat	$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	8,6 mg
	Kalium iodida	KJ	0,83 mg
	Natrium molibdat dihidrat	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25 mg
	Kupri sulfat 5 hidrat	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025 mg
Kobalt klorida 6 hidrat	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025 mg	

EDTA = etilen diamin tetra asetat